

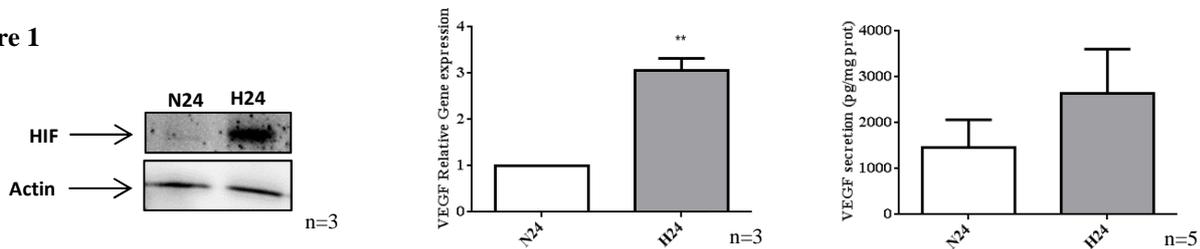
Rôle de l'inflammasome dans les îlots humains et murins

Objectif 2 : Déterminer, *in vitro* et dans des conditions physiopathologiques, si l'hypoxie est un processus activateur de l'inflammasome NLRP3 dans les îlots pancréatiques humains et dans des îlots de souris WT et KO pour NLRP3.

Méthode : Les îlots humains ont été incubés ou non dans un incubateur à hypoxie (1% oxygène) pendant 24h. Ces expériences ont été réalisées en présence ou non d'un inhibiteur de l'inflammasome, le glyburide (200µM).

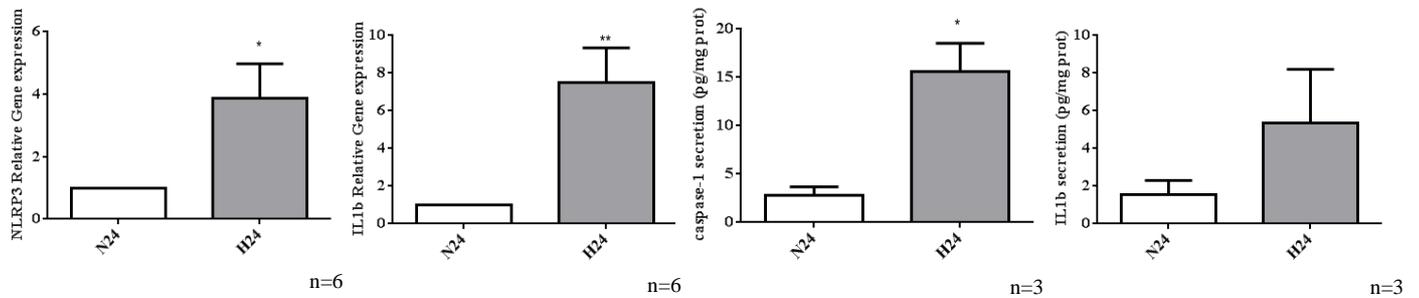
Résultats : En réponse à l'hypoxie, nous avons observé une augmentation de l'expression protéique de HIF, une augmentation significative de l'expression génique de VEGF et une sécrétion de VEGF. Ces résultats indiquent que les îlots humains étaient bien incubés en condition hypoxique (Figure 1).

Figure 1



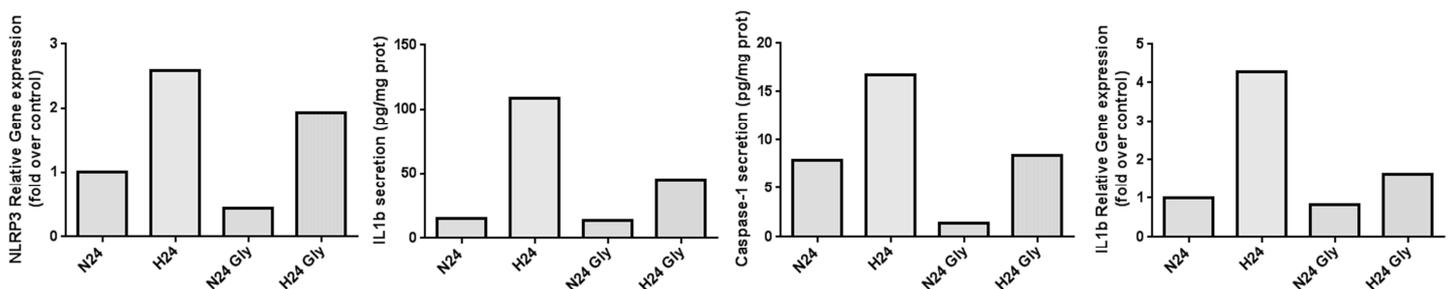
Concernant l'inflammasome, l'hypoxie induit une augmentation significative de l'expression génique de NLRP3 et IL1β et une sécrétion de caspase-1 et de l'IL1β par les îlots humains (Figure 2).

Figure 2



De façon intéressante, l'inhibition de l'inflammasome par le glyburide, prévient partiellement l'augmentation de l'expression génique de NLRP3 et IL1β ainsi que la sécrétion de caspase-1 et de l'IL1β induites par l'hypoxie (Figure 3 ; n=2)

Figure 3

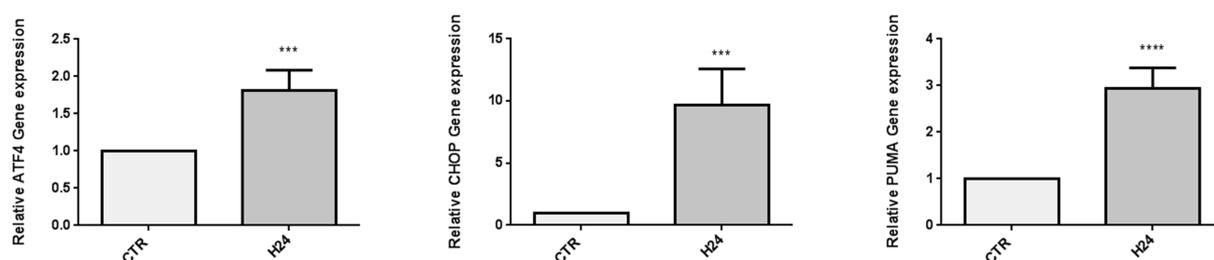


L'ensemble de ces résultats indiquent que l'hypoxie induit l'inflammasome NLRP3 dans les îlots humains. Nous avons ensuite investiguer le mécanisme par lequel l'hypoxie active l'inflammasome NLRP3. Nous nous sommes intéressés au stress du réticulum endoplasmique (RE)

Méthode : Les îlots humains ont été incubés ou non dans un incubateur à hypoxie (1% oxygène) pendant 24h. Ces expériences ont été réalisées en présence ou non d'un inhibiteur du stress du RE, le TUDCA (2mM) ou d'un activateur du stress de RE, la tunicamycine (2µg/ml).

Résultats : L'hypoxie induit une augmentation significative de l'expression génique d'ATF4, CHOP et PUMA, gènes impliqués dans le stress du RE (Figure 4 ; n=7).

Figure 4



Afin de déterminer si l'hypoxie active l'inflammasome NLRP3 via le stress du RE, les îlots humains ont été incubés en hypoxie en présence ou non d'un inhibiteur du stress du RE, le TUDCA (2mM). Les îlots humains ont aussi été incubés en normoxie en présence d'un activateur du stress du RE, la tunicamycine (2µg/ml) pendant 24h.

Résultats : L'inhibition du stress du RE prévient l'augmentation de l'expression génique de CHOP, PUMA et IL1β. De plus, l'activation du stress du RE induit l'augmentation de l'expression génique de CHOP, PUMA et IL1β comme observé en condition hypoxique (Figure 5 ; n=2)

Figure 5



Objectif 3 : Déterminer, *in vivo*, l'implication de l'inflammasome dans un contexte de rejet de greffe d'îlots en utilisant les souris KO NLRP3 dans des modèles de transplantation syngénique et allogénique chez la souris.

Les expériences sur le modèle allogénique ont été initiées. Le traitement des résultats est en cours.

Présentations du projet lors de congrès

- Présentation orale au congrès 7th EPITA Symposium and 36th AIDPIT workshop, 29-31 janvier 2017, Igl, Autriche
- Abstract soumis au 16ème congrès international IPITA, 20-23 juin 2017, Oxford, Angleterre